Труды Зоологического института РАН
Том 318, № 4, 2014, с. 424–432



УДК 597/599

КАРИОТИП ТАЛЫШСКОЙ ЖАБЫ, *BUFO EICHWALDI* (AMPHIBIA: BUFONIDAE)

Д.В. Скоринов[1]*, Е.А. Березина[2], А.А. Кидов[3], К.А. Матушкина[3], Р.А. Пасынкова[1] и С.Н. Литвинчук[1]

[1]*Институт цитологии Российской академии наук, Тихорецкий пр. 4, 194064 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: skorinovd@yandex.ru*

[2]*Средняя школа № 548, ул. Маршала Казакова 30А, 198332 Санкт-Петербург, Россия*

[3]*Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева, Тимирязевская ул. 49, 127750 Москва, Россия*

РЕЗЮМЕ

Впервые дается описание кариотипа *Bufo eichwaldi* (*2n* = 22). В кариотипе присутствуют 12 крупных метацентриков (*V*), 8 мелких метацентриков (*v*) и 2 мелких субметацентрика (*sv*): *12 V + 8 v + 2 sv, NF* = 44. По количеству хромосом и расположению ядрышкового организатора (на конце длинного плеча хромосом шестой пары) кариотип *B. eichwaldi* не отличается от таковых у близкородственных *B. bufo* и *B. verrucosissimus*. Основное различие – широкий гетерохроматиновый С-блок на длинных плечах хромосом десятой пары, который присутствует у *B. eichwaldi* и отсутствует у *B. bufo* и *B. verrucosissimus*. Кроме того, у талышской жабы хромосомы первой пары, как правило, крупнее по размеру, чем у двух других видов. Помимо этого, в кариотипе *B. eichwaldi* только хромосомы седьмой пары являются субметацентрическими, тогда как у *B. bufo* и *B. verrucosissimus* – четвёртой и седьмой.

Ключевые слова: кариотип, талышская жаба, центромерный индекс, *Bufo eichwaldi*, *Bufo bufo*, *Bufo verrucosissimus*

KARYOTYPE OF THE EICHWALD'S TOAD, *BUFO EICHWALDI* (AMPHIBIA: BUFONIDAE)

D.V. Skorinov[1*], Y.A. Berezina[2], A.A. Kidov[3], K.A. Matushkina[3], R.A. Pasynkova[1] and S.N. Litvinchuk[1]

[1]*Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Tikhoretsky Pr. 4, 194064 Saint Petersburg, Russia; e-mail: skorinovd@yandex.ru*

[2]*Secondary school No. 548, Marshala Kazakova St. 30A, 198332 Saint Petersburg, Russia*

[3]*Russian State Agricultural Universtiy - K.A. Timiryazev's Moscow Agricultural Academy, Timiryazevskaya St. 49, 127750 Moskow, Russia*

ABSTRACT

For the first time the karyotype of *Bufo eichwaldi* was described (*2n* = 22). It consists of 12 large metacentric (*V*), 8 small metacentric (*v*), and 2 small submetacentric chromosomes (*sv*): *12 V + 8 v + 2 sv, NF* = 44. According to the number of chromosomes and arrangement of NORs (in the end of long arms of pairs 6), the karyotype of *B. eichwaldi* has no differences from karyotypes of close related *B. bufo* and *B. verrucosissimus*. The main difference is wide heterochromatin C-blocks in long arms of pair 10, which is present in *B. eichwaldi* and lacking in *B. bufo* and *B. verrucosissimus*. Moreover, in the Eichwald's toad the pair 1 has, as a rule, larger size if compare with other two species. Additionally, these two species had two submetacentric chromosomes (pairs 4 and 7), but *B. eichwaldi* had only one (pair 7).

Key words: *Bufo eichwaldi*, *B. bufo*, *B. verrucosissimus*, karyotype, the Eichwald's toad, centromere index

Автор-корреспондент/Corresponding author

ВВЕДЕНИЕ

Род Обыкновенные или Серые жабы (*Bufo* Garsault, 1764) включает 17 видов и имеет разорванный ареал, состоящий из двух участков, расположенных в западной Палеарктике и на востоке Евразии (Borkin 1984; Litvinchuk et al. 2008; Garcia-Porta et al. 2012; Frost 2014). Западно-палеарктические серые жабы объединяются в комплекс *Bufo bufo* (Arntzen et al. 2013) или подрод *Bufo* (Borkin and Litvinchuk, 2013) и представлены четырьмя видами: обыкновенная жаба, *B. bufo* (Linnaeus, 1758), кавказская жаба, *B. verrucosissimus* (Pallas, 1814), средиземноморская жаба, *B. spinosus* Daudin, 1803 и талышская жаба, *B. eichwaldi* Litvinchuk, Borkin, Skorinov et Rosanov, 2008. Последний вид населяет юго-восток Азербайджана и север Ирана (Litvinchuk et al. 2008, 2012).

Кариотипы двух видов подрода *Bufo* – *B. bufo* и *B. verrucosissimus* – изучали многие авторы (Wickbom 1945; Morescalchi 1964; Ullerich 1966; Schmid 1978; Matsui 1980; Birstein and Mazin 1982; Vitelli et al. 1982; Matsui et al. 1985; Spasić-Bošković et al. 2000; Pisanets et al. 2009; Radchenko and Manilo 2009). Целью данной работы было изучение кариотипа еще одного вида этого подрода (*B. eichwaldi*) и сравнение его с уже известными кариотипами.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Изучены кариотипы 13 особей *B. eichwaldi* (самка и 12 неполовозрелых особей; 147 метафазных пластинок), собранных в четырёх локалитетах на территории Азербайджана (Табл. 1). Приготовление препаратов хромосом проводили из клеток эпителия тонкого кишечника по стандартной методике (Sessions 1996). Хромосомы были окрашены с помощью следующих методов: окрашивание по Гимзе и акрихином (Q-окрашивание), C- и Ag-бэндинги (Schmid 1978; Pisanets et al. 2009). Редактирование снимков производили при помощи программы Photoshop SC5, а измерения хромосом – в программе ImageJ 1.45s.

Морфологические промеры хромосом проводили по фотографиям 13 метафазных пластинок у 8 особей (Табл. 2). Соответствие пар гомологичных хромосом производили визуально по их размерам и на основании положения центромеры. При анализе рассматривали: а) относительные размеры хромосом (отношение длины хромосомы к общей длине гаплоидного набора хромосом в процентах; б) центромерный индекс (ЦИ; отношение длины короткого плеча к общей длине хромосомы); при значении центромерного индекса 0.26–0.37 хромосома считалась субметацентрической, а при 0.38–0.50 – метацентрической (Sessions 1996); в) наличие, размер и локализация на хромосомах C- и Ag-окрашенных участков.

Для сравнения кариотипа *B. eichwaldi* с хромосомными наборами других видов подрода были использованы литературные данные по морфологии хромосом и структуре кариотипов *B. bufo* и *B. verrucosissimus* (Morescalchi 1964; Bogart 1972; Merszaros 1973; Matsui 1980; Birshtein and Mazin 1982; Pisanets et al. 2009). Данные по морфометрии хромосом *B. bufo* из ряда локалитетов из Украины (Pisanets et al. 2009; Radchenko and Manilo 2009) не вошли в наш анализ из-за сильных отличий по степени конденсации хромосом. При анализе литературных данных порядок хромосом для *B. bufo* и *B. verrucosissimus* определялся нами по центромерным индексам, которые соответствовали таковым у *B. eichwaldi*. Объединенные собственные и литературные данные были проанализированы с применением корреспондентского анализа (относительная длина хромосом) и метода главных компонент (центромерные индексы) при помощи программы Statistica 12.0. Значения средних для выборок были рассчитаны по средним, полученным для особей, входящих в эти выборки. Значения средних для видов были рассчитаны по средним для выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Диплоидный набор *B. eichwaldi* включает 22 хромосомы ($2n = 22$; NF = 44; Рис. 1 и 2). Из них – шесть пар крупных хромосом (№№ 1–6; среднее относительное значение длины больше 10%) и пять пар мелких (№№ 7–11; меньше 6%). По средним показателям метацентрическими были хромосомы 10 пар, а субметацентрическими – только хромосомы 7-й пары (средний ЦИ=0.37). Среди разных выборок наблюдалась географическая изменчивость по центромерному индексу. Так, в выборке из Сыма субметацентрическими были хромосомы 4-й, 6-й и 7-й пар, а в выборке из

Таблица 1. Места сбора серых жаб, изученных при анализе морфологических особенностей хромосом.

Table 1. Localities of common toads used for analysis of morphology of chromosomes.

Страна, регион (Country, region)	Место сбора (Locality)	N	Координаты (Coordinates)	Источники данных (Sources)
	Bufo eichwaldi			
Азербайджан (Azerbaijan)	Сым (Sym)	1	38°27´N 48°44´E	Данная статья (Present paper)
—/—	Ловайн (Lovain)	4	38°31´N 48°47´E	—/—
—/—	Пиран (Piran)	2	38°41´N 48°38´E	—/—
—/—	Гиркан (Girkan)	1	38°40´N 48°48´E	—/—
	Bufo verrucosissimus			
Россия, Адыгея (Russia, Adygea)	Гузерипль-1 (Guzeripl-1)	4	43°50´N 40°12´E	Pisanets et al. 2009
—/—	Гузерипль-2 (Guzeripl-2)	4	~43°50´N 40°12´E	Birshtein and Mazin 1982
Азербайджан (Azerbaijan)	Катех (Katekh)	2	41°43´N 46°36´E	Pisanets et al. 2009
	Bufo bufo			
Россия, Калининградская обл. (Russia, Kaliningrad Province)	Багратионовск (Bagrationovsk)	2	54°38´N 20°53´E	Pisanets et al. 2009
Италия (Italy)	Ферензини (Ferenzini)	–	—	Bogart 1972
Франция и Бельгия (France and Belgium)	Париж и Брюссель (Paris and Brussels)	12	—	Matsui 1980
Венгрия (Hungary)	–	50	—	Merszaros 1973
Италия (Italy)	Монте Черетто (Monte Ceretto)	2	~40°39´N 14°32´E	Morescalchi 1964

Таблица 2. Изменчивость относительной длины хромосом и центромерный индекс (среднее значение ± σ) в различных выборках *Bufo eichwaldi*. № – номер хромосомы; n –количество изученных особей; m – метацентрик; sm – субметацентрик.

Table 2. Variability of relative length of chromosomes and centromere index (mean ± SD) in various localities of *Bufo eichwaldi*. № is number of chromosome; n is number of specimens; m is metacentric; sm is submetacentric.

№	Относительная длина хромосом, % (Relative length of chromosomes, %)				Центромерный индекс (Centromere index)			
	Сым (Sym)	Пиран (Piran)	Ловайн (Lovain)	Гиркан (Girkan)	Сым (Sym)	Пиран (Piran)	Ловайн (Lovain)	Гиркан (Girkan)
	n=1	n=2	n=4	n=1	n=1	n=2	n=4	n=1
1	16.14	18.51±2.52	17.67±0.66	17.07	0.48(m)	0.46±0.01(m)	0.42±0.01(m)	0.45(m)
2	15.66	16.19±0.47	15.39±0.34	15.27	0.47(m)	0.44±0.04(m)	0.46±0.02(m)	0.46(m)
3	12.67	12.84±0.98	13.87±1.31	13.33	0.42(m)	0.39±0.04(m)	0.41±0.02(m)	0.43(m)
4	10.88	11.85±0.05	12.62±0.30	12.48	0.36(sm)	0.38±0.02(m)	0.40±0.05(m)	0.36(sm)
5	10.48	10.51±0.92	10.05±0.57	10.61	0.47(m)	0.48±0.02(m)	0.47±0.02(m)	0.48(m)
6	10.68	9.24±0.22	9.04±0.90	9.73	0.37(sm)	0.41±0.01(m)	0.42±0.04(m)	0.42(m)
7	5.67	4.69±0.34	4.79±0.57	4.94	0.36(sm)	0.33±0.00(sm)	0.39±0.05(m)	0.41(m)
8	5.56	3.90±1.11	4.60±0.42	4.69	0.48(m)	0.44±0.00(m)	0.46±0.04(m)	0.48(m)
9	4.58	4.38±1.38	4.50±0.17	4.55	0.44(m)	0.39±0.03(m)	0.44±0.04(m)	0.45(m)
10	4.89	3.56±0.58	3.95±0.42	3.76	0.45(m)	0.44±0.01(m)	0.47±0.04(m)	0.49(m)
11	4.14	3.58±0.88	3.68±0.43	3.44	0.45(m)	0.45±0.02(m)	0.49±0.05(m)	0.46(m)

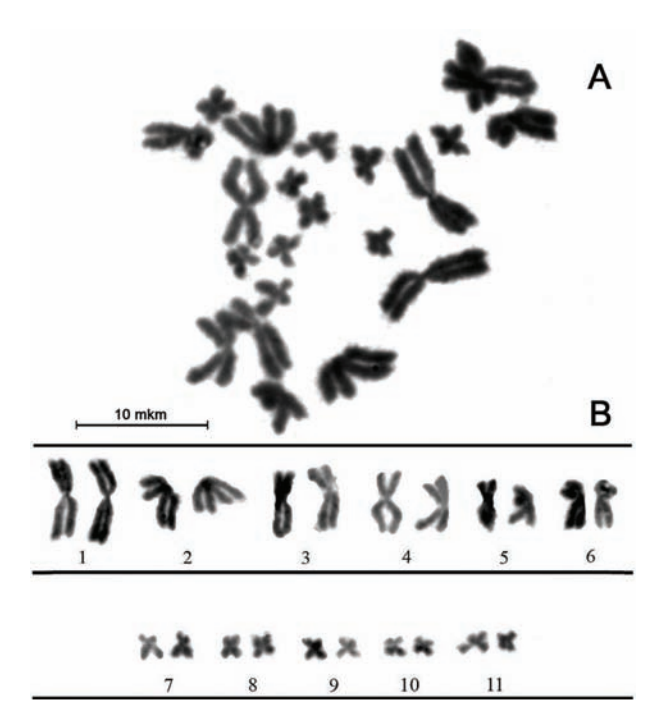


Рис. 1. Хромосомы *Bufo eichwaldi* из Ловайна. А – метафазная пластинка (окраска по Гимзе); В – кариотип.

Fig. 1. Chromosomes of *Bufo eichwaldi* from Lovain. A – metaphase (Giemsa); B – karyotype.

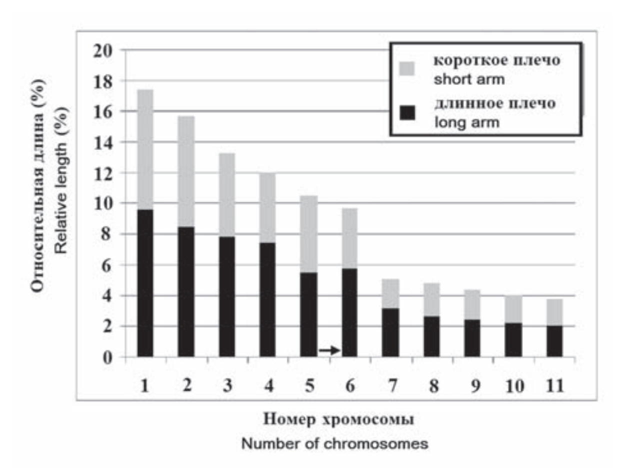


Рис. 2. Идиограмма гаплоидного набора хромосом *Bufo eichwaldi*. Стрелкой показано положение ядрышкового организатора.

Fig. 2. Diagrammatic representation of haploid karyotype of *Bufo eichwaldi*. An arrow shows position of NOR.

Гиркана – хромосомы только 4-й пары (Табл. 2). В выборке из Ловайна по значениям средних все хромосомы были метацентрическими. Из восьми изученных особей хромосома 4-ой пары была метацентриком только у трёх особей (1 из Пирана и 2 из Ловайна). Несмотря на то, что у *B. eichwaldi* субметацентричной является только 7-я пара хромосом, 4-я и 6-я пары более субметацентрические по сравнению с остальными хромосомами (размах изменчивости центромерного индекса 0.36–0.40 и 0.37–0.42 соответственно).

Корреспондентский анализ, проведённый по относительным размерам хромосом *B. eichwaldi*, а также по взятым из литературных источников относительным размерам хромосом *B. bufo* и *B. verrucosissimus* (Табл. 2 и 3), выявил две достоверные оси, отражающие 54.1% и 17.2% изменчивости соответственно. Наибольший вклад в распределение центроидов по первой оси внесли различия по мелким хромосомам 9-й и 11-й пар, а по второй оси – хромосомы наиболее крупной 1-й пары. Этот анализ показал, что по второй оси выборки талышской жабы хорошо отделяются от остальных выборок, относящихся к двум другим видам подрода *Bufo* (Рис. 3). Как правило, у *B. eichwaldi* хромосома 1-й пары крупнее (в среднем 17.4%), чем таковая у *B. bufo* и *B. verrucosissimus* (16.3% и 15.0% соответственно).

Анализ главных компонент, выполненный по значениям центромерного индекса (Табл. 2 и 4), выявил три достоверные компоненты, отражающие 50.7%, 22.7% и 9.4% изменчивости соответственно. В распределение центроидов по первой компоненте наибольший вклад внесли все хромосомы, кроме 1-й, 5-й, 6-й и 8-й пар, а хромосомы только 1-й и 5-й пар определяли положение центроидов вдоль второй компоненты. Этот анализ не выявил явных различий между *B. eichwaldi*, *B. verrucosissimus* и *B. bufo*.

Окрашивание акрихином не выявило ярко окрашенных участков (Q-бэндов) ни на одной из хромосом *B. eichwaldi*. Только на концах длинных плеч хромосом 6-й пары были отмечены тёмные участки (Рис. 4А), положение которых совпадает с расположением ядрышковых организаторов (ЯОР), выявленных нами с помощью Ag-окрашивания (Рис. 4В).

С-окрашивание показало наличие центромерных гетерохроматиновых блоков на всех хромосомах *B. eichwaldi*. Кроме того, у всех изученных особей этого вида были обнаружены широкие прицентромерные С-окрашенные участки, занимающие бóльшую часть длинных плеч хромосом 10-й пары (Рис. 4С).

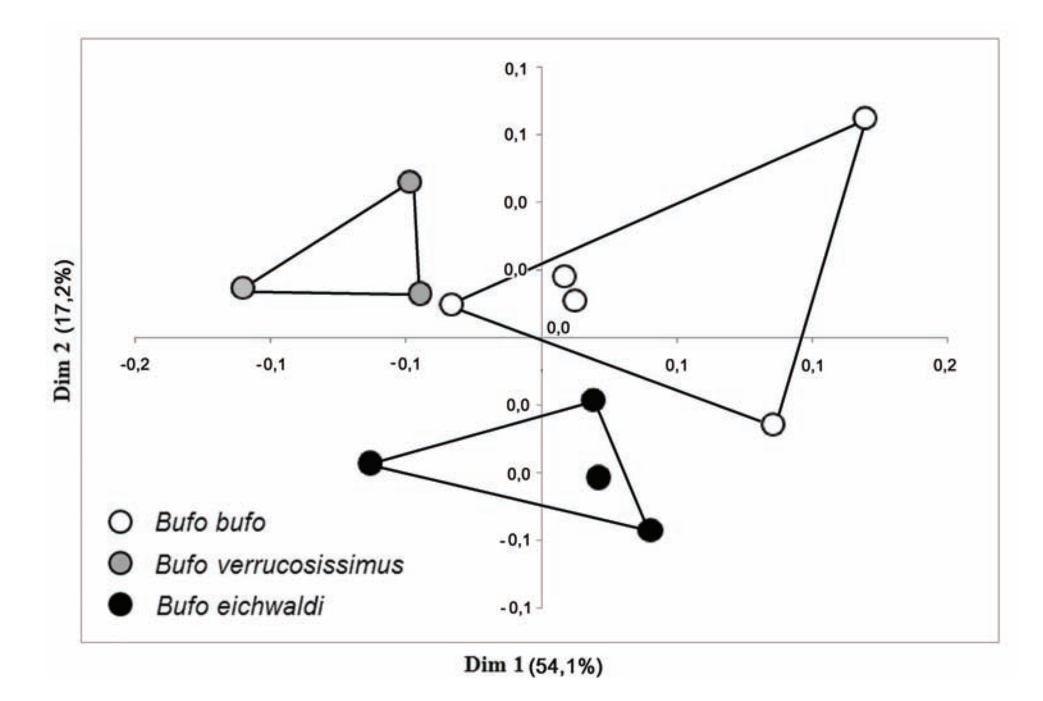


Рис. 3. Расположение выборок трёх видов жаб комплекса *Bufo bufo* в плоскости первых двух осей по результатам корреспондентского анализа, выполненного по относительным длинам хромосом.

Fig. 3. The distribution of samples of toads of *Bufo bufo* complex in the space of the first two axes of the correspondence analysis on the relative length of chromosomes.

Таблица 3. Изменчивость относительной длины хромосом (среднее значение ± σ) у двух видов комплекса *Bufo bufo*. № – номер хромосомы. I – Гузерипль-1 (Pisanets et al. 2009); II – Гузерипль-2 (Birshtein and Mazin 1982); III – Катех (Pisanets et al. 2009); IV – Багратионовск (Pisanets et al. 2009); V – Ферензини (Bogart 1972); VI – Париж и Брюссель (Matsui 1980); VII – Венгрия (Merszaros 1973); VIII– Монте-Черетто (Morescalchi 1964).

Table 3. Variability of relative length of chromosomes (mean ± SD) in two species of *Bufo bufo* complex. № is number of chromosome. I – Guzeripl-1(Pisanets et al. 2009); II – Guzeripl-2 (Birshtein and Mazin 1982); III – Katekh (Pisanets et al. 2009); IV – Bagrationovsk (Pisanets et al. 2009); V – Ferenzini (Bogart 1972); VI – Paris and Brussels (Matsui 1980); VII – Hungary (Merszaros 1973); VIII – Monte-Ceretto (Morescalchi 1964).

№	*B. verrucosissimus*			*B. bufo*				
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	14.15±0.68	16.60±0.30	14.19±0.52	15.63±0.75	17.05	16.54	15.76	16.55
2	16.98±0.96	14.55±0.27	15.25±0.23	15.27±0.73	16.30	15.65	15.73	15.05
3	12.81±0.63	11.25±0.07	12.02±0.52	13.11±0.91	13.79	12.94	14.41	13.75
4	12.15±0.66	12.46±0.13	11.76±0.98	11.41±0.57	12.27	12.10	14.10	12.55
5	10.93±0.57	11.92±0.17	10.74±0.10	11.32±0.56	12.94	11.56	12.04	10.55
6	9.25±0.44	9.36±0.10	9.72±0.22	9.71±0.52	9.02	9.41	10.78	9.85
7	5.20±0.22	5.00±0.10	5.54±0.40	5.32±0.40	4.26	4.94	3.96	4.70
8	4.69±0.19	5.26±0.06	5.37±0.12	5.46±0.36	4.01	4.99	4.05	4.90
9	6.04±0.31	5.81±0.07	5.95±0.14	5.15±0.29	3.26	5.26	4.11	5.20
10	4.17±0.14	4.09±0.13	4.93±0.45	4.18±0.34	4.01	3.62	3.11	3.65
11	3.63±0.09	3.78±0.10	4.55±0.56	3.44±0.41	3.10	3.02	1.95	3.25

Таблица 4. Изменчивость центромерного индекса (среднее значение ± σ) у двух видов комплекса *Bufo bufo*. № – номер хромосомы; m – метацентрик; sm – субметацентрик. I – Гузерипль-1 (Pisanets et al. 2009); II – Гузерипль-2 (Birshtein and Mazin 1982); III – Катех (Pisanets et al. 2009); IV – Багратионовск (Pisanets et al. 2009); V – Ферензини (Bogart 1972); VI – Париж и Брюссель (Matsui 1980); VII – Венгрия (Merszaros 1973); VIII– Монте-Черетто (Morescalchi 1964).

Table 4. Variability of centromere index (mean ± SD) in two species of *Bufo bufo* complex. № is number of chromosome; m is metacentric; sm is submetacentric. I – Guzeripl-1 (Pisanets et al. 2009); II – Guzeripl-2 (Birshtein and Mazin 1982); III – Katekh (Pisanets et al. 2009); IV – Bagrationovsk (Pisanets et al. 2009); V – Ferenzini (Bogart 1972); VI – Paris and Brussels (Matsui 1980); VII – Hungary (Merszaros 1973); VIII – Monte-Ceretto (Morescalchi 1964).

№	*B. verrucosissimus*			*B. bufo*				
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1	0.40±0.01(m)	0.46(m)	0.38±0.11(m)	0.47±0.02(m)	0.45(m)	0.44(m)	0.47(m)	0.45(m)
2	0.46±0.01(m)	0.47(m)	0.40±0.11(m)	0.43±0.01(m)	0.45(m)	0.45(m)	0.47(m)	0.42(m)
3	0.42±0.004(m)	0.45(m)	0.39±0.11(m)	0.41±0.02(m)	0.40(m)	0.40(m)	0.38(m)	0.41(m)
4	0.39± 0.01(m)	0.39(m)	0.32±0.09(sm)	0.38±0.01(m)	0.34(sm)	0.36(sm)	0.33(sm)	0.34(sm)
5	0.45±0.01(m)	0.47(m)	0.39±0.11(m)	0.47±0.01(m)	0.50(m)	0.48(m)	0.47(m)	0.46(m)
6	0.42±0.01(m)	0.43(m)	0.37±0.11(sm)	0.41±0.03(m)	0.36(sm)	0.41(m)	0.38(m)	0.41(m)
7	0.41±0.01(m)	0.38(m)	0.32±0.09(sm)	0.37±0.02(sm)	0.29(sm)	0.34(sm)	0.33(sm)	0.32(sm)
8	0.46±0.01(m)	0.47(m)	0.40±0.11(m)	0.46±0.02(m)	0.50(m)	0.46(m)	0.44(m)	0.43(m)
9	0.42±0.004(m)	0.47(m)	0.40±0.11(m)	0.45±0.01(m)	0.38(m)	0.46(m)	0.44(m)	0.42(m)
10	0.46±0.004(m)	0.47(m)	0.40±0.11(m)	0.47±0.02(m)	0.42(m)	0.47(m)	0.47(m)	0.45(m)
11	0.46±0.01(m)	0.48(m)	0.40±0.12(m)	0.40±0.02(m)	0.38(m)	0.43(m)	0.40(m)	0.43(m)

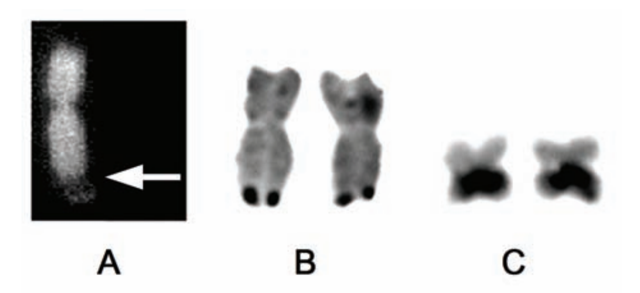


Рис. 4. Q-окрашенная 6-я пара хромосом *Bufo eichwaldi* (A); стрелкой помечен затемненный участок на длинных плечах 6-й хромосомы. Ag-окрашенная 6-я пара хромосом *B. eichwaldi* (B). С-окрашенная 10-я пара хромосом *B. eichwaldi* (C)

Fig. 4. Q-stained sixth pair of chromosomes of *Bufo eichwaldi* (A); an arrow shows darkened part of long arm of sixth chromosome. Ag-stained sixth pair of chromosomes of *B. eichwaldi* (B). C-stained tenth pair of chromosomes of *B. eichwaldi* (C).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные показали, что кариотип *B. eichwaldi* характеризуется тем же числом хромосом ($2n = 22$), что и большинство представителей семейства Bufonidae Gray, 1825 (Bogart 1972; Morescalchi 1977). Кроме того, этот вид, как и все остальные виды рода *Bufo*, характеризуется шестью парами крупных и пятью парами мелких хромосом (Wickbom 1945; Ullerich 1966; Bogart 1972; Kim et al. 1976; Vitelli et al. 1982; Yang 1983; Matsui et al. 1985; Rao et al. 1998). Как все западнопалеарктические виды, относящиеся к подроду *Bufo*, талышская жаба имеет прителомерные вторичные перетяжки, расположенные на конце длинного плеча хромосом 6-й пары (Wickbom 1945; Morescalchi 1964; Ullerich 1966; Matsui 1980). С помощью Ag-окрашивания и *in situ* гибридизации было выявлено, что ЯОРы находятся именно в этих районах хромосом (Schmid 1978; Birstein and Mazin 1982; Vitelli et al. 1982; Matsui et al. 1985; Spasić-Bošković et al. 2000; Pisanets et al. 2009).

У *B. eichwaldi*, как и у других видов подрода *Bufo*, преобладают кариотипы, состоящие из метацентрических хромосом (Birstein and Mazin 1982; Matsui et al. 1985; Spasić-Bošković et al. 2000; Pisanets et al. 2009). Однако следует подчеркнуть, что у *B. eichwaldi* присутствует только одна пара

Таблица 5. Средние значения относительной длины хромосом и центромерного индекса (среднее значение ± σ) у трёх видов комплекса *Bufo bufo*. № – номер хромосомы; m – метацентрик; sm – субметацентрик.

Table 5. Means of the relative length of chromosomes and centromere index (mean ± SD) in three species of *Bufo bufo* complex. № is number of chromosome; m is metacentric; sm is submetacentric.

№	Относительная длина хромосом, % Relative length of chromosomes, %			Центромерный индекс Centromere index		
	B. eichwaldi	*B. verrucosissimus*	*B. bufo*	*B. eichwaldi*	*B. verrucosissimus*	*B. bufo*
1	17.35±1.00	14.98±1.40	16.31±0.60	0.45±0.02(m)	0.41±0.04(m)	0.46±0.01(m)
2	15.63±0.41	15.59±1.25	15.60±0.48	0.46±0.01(m)	0.44±0.04(m)	0.45±0.02(m)
3	13.18±0.54	12.03±0.78	13.60±0.59	0.41±0.02(m)	0.42±0.03(m)	0.40±0.01(m)
4	11.96±0.79	12.12±0.35	12.49±0.99	0.38±0.02(m)	0.37±0.04(sm)	0.35±0.02(sm)
5	10.41±0.25	11.20±0.64	11.68±0.89	0.47±0.01(m)	0.43±0.04(m)	0.47±0.02(m)
6	9.67±0.73	9.44±0.24	9.75±0.66	0.41±0.02(m)	0.41±0.03(m)	0.39±0.02(m)
7	5.02±0.45	5.25±0.27	4.64±0.54	0.37±0.04 (sm)	0.37±0.05(sm)	0.33±0.03(sm)
8	4.69±0.68	5.11±0.36	4.68±0.63	0.46±0.02(m)	0.44±0.04(m)	0.46±0.03(m)
9	4.50±0.09	5.93±0.12	4.59±0.89	0.43±0.03(m)	0.43±0.03(m)	0.43±0.03(m)
10	4.04±0.59	4.40±0.46	3.71±0.41	0.46±0.02(m)	0.44±0.04(m)	0.45±0.02(m)
11	3.71±0.30	3.99±0.50	2.95±0.58	0.46±0.02(m)	0.45±0.04(m)	0.41±0.02(m)

субметацентрических хромосом (7-я), тогда как у *B. bufo* и *B. verrucosissimus* – две пары (7-я и 4-я) (Табл. 5). В то же время необходимо отметить, что по центромерному индексу есть большая географическая изменчивость. Так, например, у *B. eichwaldi* хромосомы 6-й пары, несущие ЯОР, как правило, метацентрические, но у двух особей этого вида (Сым и Ловайн) они субметацентрические (ЦИ=0.37). По среднему ЦИ хромосомы *B. eichwaldi* могут быть расположены следующим образом: 7<4<6<3<9<1<2<10<11<8<5, *B. verrucosissimus* – 4<7<6<1<3<9<5<2<8<10<11 и *B. bufo* – 7<4<6<3<11<9<2<10<1<8<5.

Окрашивание хромосом акрихином выявило слабо выраженную флюоресценцию как у *B. eichwaldi*, так и у *B. bufo* и *B. verrucosissimus* (Schmid 1978; Birstein 1981; Birstein and Mazin 1982). Анализ C-бэндинга показал, что хромосомы *B. eichwaldi*, как и хромосомы других видов подрода *Bufo*, характеризуются наличием гетерохроматиновых блоков на центромерных участках всех хромосом (Grafodatsky et al. 1978; Schmid 1978; Matsui 1980; Birstein 1981; Birshtein and Mazin 1982; Matsui et al. 1985; Spasić-Bošković et al. 2000; Pisanets et al. 2009). Однако по некоторым характеристикам C-бэндов нами были выявлены достоверные структурные отличия кариотипа *B. eichwaldi* от кариотипов *B. bufo* и *B. verrucosissimus*. Широкий гетерохроматиновый блок на длинных плечах хромосом 10-й пары присутствует только у талышской жабы, а у обыкновенной жабы этот блок гетерохроматина не обнаружен (Schmid 1978; Birstein and Mazin 1982; Matsui et al. 1985; Spasić-Bošković et al. 2000), и только иногда у *B. bufo* наблюдается C-полоса, но не на длинных, а на коротких плечах хромосом 11-й пары (Matsui et al. 1985; Pisanets et al. 2009). У кавказской жабы длинное плечо 11-й пары (а не 10-й) может иметь гетерохроматиновый блок, но меньших размеров (Matsui et al. 1985; Pisanets et al. 2009). Здесь важно отметить, что различные авторы (Schmid 1978; Matsui et al. 1980; Birstein 1981; Birshtein and Mazin 1982; Spasić-Bošković et al. 2000) указывают на наличие C-полос и на некоторых других хромосомах *B. bufo* и *B. verrucosissimus*, однако, результаты, полученные этими авторами, часто не совпадают друг с другом. Возможно, это связано с наличием географической изменчивости по данному признаку, что требует дальнейших исследований. Кроме того, это может быть связано с

некоторой нестабильностью структуры хромосом, что ранее было отмечено и у других групп бесхвостых амфибий (Birstein 1981).

Таким образом, нами было показано, что диплоидный набор *B. eichwaldi* очень близок к таковому двух других видов подрода *Bufo* по количеству крупных и мелких хромосом, а также положению ядрышкового организатора. Однако он отличается от них по нескольким структурным характеристикам кариотипа: конститутивному гетерохроматину, размеру и морфологии хромосом. Показано, что в кариотипе *B. eichwaldi* на длинных плечах хромосом 10-й пары присутствует широкий гетерохроматиновый С-блок. Кроме того, у *B. eichwaldi* хромосомы 1-й пары, как правило, крупнее, чем у *B. bufo* и *B. verrucosissimus*. Помимо этого, у талышской жабы хромосомы только одной пары (7-й) являются субметацентрическими, тогда как у *B. bufo* и *B. verrucosissimus* – двух пар (4-й и 7-й).

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы искренне благодарим рецензентов Л.Я. Боркина и Л.А. Куприянову за ценные советы и замечания, позволившие улучшить данную работу. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 12-04-01277-а и НШ-3553.2014.4.

ЛИТЕРАТУРА

Arntzen J.W., Recuero E., Canestrelli D., and Martínez-Solano Í. 2013. How complex is the *Bufo bufo* species group? *Molecular Phylogenetics and Evolution,* **69**: 1203–1208.

Birstein V.I. 1981. Specific differential staining patterns of chromosomes in the Anura, some species of the genera *Rana* and *Bufo* taken as an example. *Zoologicheskiy Zhurnal*, **60**(2): 246–256. [In Russian, with English summary].

Birshtein V.J. and Mazin A.L. 1982. Chromosomal polymorphism of *Bufo bufo* and C – banding pattern of *B. b. verrucosissima. Genetica,* **59**: 93–98.

Bogart J.P. 1972. Karyotypes. In: W.F. Blair (Ed.). Evolution in the genus *Bufo*. University of Texas Press. Austin-London: 171–195.

Borkin L.J. 1984. European – Far Eastern disjunctions in amphibian distributions: new analysis of the problem. In: L.J. Borkin and N.B. Ananjeva (Eds.). Ecology and Faunistics of Amphibians and Reptiles of the USSR and Adjacent Countries. Proceedings of the Zoological Institute, Academy of Sciences of the USSR, Leningrad, Vol. 124: 55–88. [In Russian, with English summary].

Borkin L.J. and Litvinchuk S.N. 2013. Amphibians of the Palearctic: taxonomic composition. *Trudy Zoologicheskogo Instituta RAN*, **317**(4): 494–541. [In Russian, with English summary].

Frost D.R. 2014. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0. http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html

Garcia-Porta J., Litvinchuk S.N., Crochet P.A., Romano A., Geniez Ph., Lo-Valvo M., Lymberakis P. and Carranza S. 2012. Molecular phylogenetics and historical biogeography of the west-palearctic common toads (*Bufo bufo* species complex). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **63**: 113–130.

Grafodatsky A.S., Grigoriev O.V. and Isaenko A.A. 1978. Differential staining of chromosomes in four species of amphibians. *Zoologicheskiy Zhurnal*, **57**(8): 1279–1281. [In Russian, with English summary].

Kim Y.J., Sunwoo Y.I. and Rhee K.S. 1976. Isozymes and karyotypes of *Bufo* species. *Korean Journal of Zoology*, **19**(3): 123–141.

Litvinchuk S.N., Borkin L.J., Skorinov D.V. and Rosanov J.M. 2008. A new species of common toads from the Talysh Mountains, South-Eastern Caucasus: genome size, allozyme, and morphological evidences. *Russian Journal of Herpetology*, **15**(1): 19–43.

Litvinchuk S.N., Mazepa G.O., Kami H.G. and Auer M. 2012. Taxonomic status and distribution of common toads in Iran. *Herpetological Journal*, **22**: 271–274.

Matsui M. 1980. Karyology of Euroasian toads of the *Bufo bufo* complex. *Annotaciones Zoologicae Japonenses*, **53**: 65–68.

Matsui M., Seto T., Kohsaka Y. and Borkin L.J. 1985. Bearing of chromosome C-banding patterns on the classification of Euroasian toads of the *Bufo bufo* complex. *Amphibia–Reptilia*, **6**: 23–33.

Mészáros B. 1973. Critical studies on karyotypes of eight anuran species from Hungary and some problems concerning the evolution of the order. *Acta Biologica Debrecina*, **10–11**(1972–1973): 151–161.

Morescalchi A. 1964. Il corredo cromosomico dei Bufonidi Italiani. *Bollettino di Zoologia*, **31**: 827–835. [In Italian, with English summary].

Morescalchi A. 1977. New developments in vertebrate cytotaxonomy. I. Cytotaxonomy of the amphibians. *Genetica*, **50**(3): 179–193.

Pisanets E.M., Litvinchuk S.N., Rosanov Yu.M., Reminniy V.Yu., Pasinkova R.A., Suryadnaya N.N. and Matveyev A.S. 2009. Common toads (Amphibia, Bufonidae, *Bufo bufo* complex) from the Ciscaucasia and north of the Caucasus: the new analysis of the problem. *Zbirnik Prats' Zoologichnogo Museyu,* **40** (2008–2009): 83–125. [In Russian, with English summary].

Radchenko V.I. and Manilo V.V. 2009. A comparatively kariological analysis of the toads *Bufo* (Amphibia, Anura) from Ukraine. *Vestnik Zoologii,* **43**(6): 557–563. [In Russian, with English summary].

Rao D.-Q., Yang D.-T. and Wang R.-F. 1998. Comparison of karyotypes of four toads of the genera *Bufo* and *Torrentophryne* of China. *Russian Journal of Herpetology,* **5**(1): 65–69.

Schmid M. 1978. Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer region in *Bufo* and *Hyla*. *Chromosoma,* **66**: 349–345.

Sessions S.K. 1996. Chromosomes: molecular cytogenetics. In: D.M. Hillis, C. Moritz and B.K. Mable (Eds.). Molecular Systematics. Second edition. Sunderland, Sinauer: 121–168.

Spasić-Bošković O., Lazić T., Bilić G. and Vujošević M. 2000. C-banding kariyotypes and location of NOR's in the toad species *Bufo bufo* and *Bufo viridis* from Yugoslavia. *Genetika*, **32**: 145–153.

Ullerich F.H. 1966. Karyotyp und DNS-Gehalt von *Bufo bufo, B. viridis, B. bufo* × *B. viridis* und *B. calamita* (Amphibia, Anura). *Chromosoma*, **18**: 316–342.

Vitelli L., Batistoni R., Andronico F., Nardi I., and Barsacchi-Pilone G. 1982. Chromosomal localization of 18S + 28S and 5S ribosomal RNA genes in evolutionarily diverse anuran amphibians. *Chromosoma*, **84**: 475–491.

Wickbom T. 1945. Cytological studies on Dipnoi, Urodela, Anura, and *Emys*. *Hereditas*, **31**: 241–346.

Yang Y. 1983. A comparative study on three subspecies of *Bufo bufo* from China using techniques of C-banding, Ag-NORs and electrophoreses of sera and of lactate dehydrogenase (LDH) isozymes. *Acta Herpetologica Sinica*, **2**(2): 1–9. [In Chinese, with English summary].

Представлена 21 ноября 2014; принята 15 декабря 2014.